

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLINICO



**DETECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) POR MEDIO DE LA
PRUEBA CARE HPV EN MUJERES DE 30 A 59 AÑOS, EN LA UNIDAD DE SALUD
APOPA, EN EL MES DE JULIO DE 2023**

Presentado por:

Nathalie Yanet Márquez Grande

Para optar al grado de:

Licenciado/a en laboratorio clínico

Asesor:

Licda. Karla Stephanie Díaz de López

Ciudad universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, El Salvador, septiembre, 2023

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

Msc. Roger Armando Arias

Vicerrector Académico

PhD. Raúl Ernesto Azcúnaga López

Vicerrector Administrativo

Ing. Juan Rosa Quintanilla

Secretario/a General

Ing. Francisco Antonio Alarcón

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Decana

MsC. Josefina Sabrían de Rodríguez

Vicedecano

Dr. Saúl Díaz Peña

Secretaria

MsC. Aura María Miranda de Arce

Director de Escuela

MsC. José Eduardo Zepeda Avelino

Directora de Carrera

Licda. Msp. Miriam Cecilia Recinos de Barrera

CONTENIDOS

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR	ii
AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE MEDICINA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	viii
DESARROLLO	1
CONCLUSIONES	15
FUENTES DE INFORMACIÓN	16

AGRADECIMIENTOS

A Dios,

Por darme la sabiduría y guía en mi camino de carrera en todos los desafíos que he sobrellevado.

A mis padres,

Por su confianza y ánimos de luchar por mis sueños, mis logros son sus logros y de mi están orgullosos.

A mis docentes,

Por todas y cada una de sus clases que con mucho esfuerzo me permitieron florecer en conocimiento y así poder aplicarlo a mi día a día, sin su instrucción profesional no habría llegado hasta este nivel.

A mi asesora,

Por la orientación que ha sido como un faro en este camino que juntas sobrellevamos, aprendí a desarrollar de manera correcta un ensayo, agradezco su apoyo, dedicación y paciencia.

Nathalie Yanet Márquez Grande

RESUMEN

El virus del papiloma humano es un virus ADN se clasifica en dos grandes grupos los de alto riesgo y los de bajo riesgo, este virus forma parte de las conocidas como enfermedades de transmisión sexual que afecta a las mujeres de nuestro país la mayoría de las personas lo podemos contraer en algún momento de nuestras vidas, el cáncer del cuello uterino se produce cuando hay un crecimiento anormal de las células a este nivel dicho crecimiento es causado por algunos tipos de virus del papiloma humano (los denominados de alto riesgo) específicamente los genotipos 16 y 18 son causantes de la mayoría de casos que evolucionan a cáncer a largo plazo una vez infectan las células del cuello uterino en las mujeres habiendo datos de mortalidad teniendo como diagnóstico lesiones de este tipo. La prueba care HPV test es una técnica de biología molecular muy antigua, esta prueba es realizada en la unidad de salud de Apopa por un profesional en laboratorio clínico, la cual utiliza como principio la captura de híbridos 2 detecta la presencia de 14 tipos de VPH de alto riesgo entre ellos el 14 y 16 mencionados anteriormente, se basa en la amplificación de ácidos nucleicos que se combinan con sondas de ARN específicas creando híbridos ADN:ARN las cuales a su vez se combinan con anticuerpos y tras un proceso de lavado para eliminar restos innecesarios, con la participación de la fosfatasa alcalina y haciendo uso de quimioluminiscencia para la detección cualitativa y finalmente su respectivo resultado. Para esta técnica se utilizan muestras cervicouterinas tomadas a mujeres entre 30 a 59 años de edad por el personal de enfermería y médicos de los diferentes establecimientos de salud de los cuales se refieren muestras para su estudio incluyendo la unidad de salud de Apopa. Esta prueba se describe como única, pero para que el médico haga diagnóstico debe complementar con otro tipo de estudios.

Palabras claves: virus del papiloma humano, cáncer del cuello uterino, biología molecular, captura de híbridos 2

SUMMARY

The human papilloma virus is a DNA virus, it is classified into two large groups: high-risk and low-risk, this virus is part of what is known as sexually transmitted diseases that affect women in our country most of the people. we can contract it at some point in our lives, cervical cancer occurs when there is abnormal growth of cells at this level, this growth is caused by some types of human papillomavirus (so-called high-risk) specifically the genotypes 16 and 18 are the cause of the majority of cases that evolve to cancer in the long term once they infect the cells of the cervix in women, with mortality data having lesions of this type as a diagnosis. The care HPV test is a very old molecular biology technique. This test is performed at the Apopa health unit by a professional in a clinical laboratory, which uses hybrid capture as a principle 2 detects the presence of 14 types of HPV high risk among them 14 and 16 mentioned above, is based on the amplification of nucleic acids that are combined with specific RNA probes creating DNA:RNA hybrids which in turn are combined with antibodies and after a washing process to eliminate unnecessary remains, with the participation of alkaline phosphatase and using chemiluminescence for qualitative detection and finally its respective result. For this technique, cervical samples taken from women between 30 and 59 years of age are used by nursing staff and doctors from the different health establishments from which samples are referred for study, including the Apopa health unit. This test is described as unique, but for the doctor to make a diagnosis, it must be complemented with other types of studies.

Keywords: human papillomavirus, cervical cancer, molecular biology, hybrid capture

INTRODUCCIÓN

El presente ensayo tiene el propósito de describir a manera general la técnica por medio de la cual se hace la detección del virus del papiloma humano (VPH) el cual es un virus ADN que pertenece a la familia *Papovaviridae*, considerado el agente causal más importante del carcinoma cérvico uterino en mujeres, Su genoma contiene nueve o 10 regiones codificantes, denominadas zonas abiertas de lectura (ORFs por sus siglas en inglés). Dichas ORFs son secuencias de nucleótidos que codifican proteínas no estructurales (enzimas) involucradas en la regulación de las funciones virales, así como proteínas estructurales involucradas en la producción de las diferentes partículas del virus. Aquellas que codifican proteínas no estructurales son conocidas como genes de expresión temprana o E ("early") y las que codifican proteínas estructurales se denominan genes de expresión tardía o L ("late").

Existe una relación etiopatogénica entre el desarrollo del cáncer de cuello uterino y la infección de genotipos de alto riesgo del VPH, específicamente los genotipos 16 y 18 causan el 70 % de los casos de cáncer y lesiones precancerosas. Su detección y genotipificación recaen en el uso de pruebas moleculares, las cuales en su mayoría están dirigidas a la detección del ADN de los genotipos de alto riesgo, siendo el principio la captura de híbridos 2 (CH2) que utiliza la alta especificidad de las sondas de ácido ribonucleico (ARN) para detectar 14 genotipos de alto riesgo del VPH; esta técnica es la prueba molecular más antigua de uso rutinario en las actividades de detección temprana. Tiene una alta sensibilidad y valor predictivo negativo, si una mujer obtiene resultados negativos en la citología y en la prueba de captura de híbridos 2 tiene una probabilidad nula de tener lesiones al menos durante 5 a 7 años es por ello que esta prueba va dirigida exclusivamente a mujeres mayores de 30 años y menores de 59 y se realiza cada 5 años.

El fin de este ensayo no es describir un paso a paso del proceso para realizar la prueba, más bien a manera general actuación, principio, procedimiento, aplicaciones y como se interpretan los resultados sin entrar en detalle en la prevalencia. A la vez se describe como única, aunque se sabe que hay muchas otras técnicas de detección en el mercado. Esta prueba se usa en conjunto con la citología (la cual no será descrita en este documento), para dar un diagnóstico y posterior tratamiento a la paciente.

Los beneficios de esta prueba son: la detección rápida y precisa del VPH, virus que puede provocar cáncer de cérvix, detecta al menos 1 o más de los genotipos de alto riesgo del VPH responsable de las oncoproteínas que se expresan en las células cervicales con mayor probabilidad de ser malignas, categoriza los virus de mayor riesgo y ayuda a centrarse en mujeres de mayor riesgo de cáncer de cuello uterino, combinando la citología y la prueba que detecta el ADN de los tipos del VPH de alto riesgo.

La muestra utilizada para esta prueba son células del cuello uterino colectadas por medio de un cepillo y depositadas en un medio de transporte viral universal, esta muestra debe ser almacenada en refrigeración de entre 2° a 8°C hasta su procesamiento, siendo transportadas en triple embalaje mantenido la cadena de frío para su transporte.

En lo personal busco describir esta prueba con fines didácticos para futuros interesados en el tema que conozcan un esbozo sobre esta técnica de biología molecular implementada en nuestro país teniendo en cuenta que la población que visita los establecimientos de salud son tanto de zonas urbanas como rurales, es una prueba accesible a esta población y la clasificación para su realización del rango de edades es debido a datos de investigaciones realizadas en otros países que nos permite hacer buen uso de los recursos e insumos para dicha prueba.

DESARROLLO

Virus del papiloma humano (VPH)

Anteriormente, los papilomavirus pertenecían, junto con los *poliomavirus*, a la familia *Papovaviridae*; sin embargo, con la posterior secuenciación de los genomas de los papilomavirus se observó que aunque tienen una organización genética semejante, su transcripción es diferente: unidireccional en los *papilomavirus* y bidireccional en los *poliomavirus*, por lo que el Comité Internacional de Taxonomía de los virus decidió que los *papilomavirus* fueran una familia diferente, denominada *Papillomaviridae*.

Esta familia infecta los epitelios de mamíferos y otras especies vertebradas. El VPH pertenece a cinco de 18 géneros de la familia *Papillomaviridae*: *alfa*, *beta*, *gamma*, *mu* y *nu*. Los papilomavirus se caracterizan por ser pequeños virus no envueltos que miden entre 45 nm a 55 nm de diámetro, con una cápside icosaédrica de proteína. Su genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) circular de doble cadena de aproximadamente 8,000 pares de bases de longitud, contiene nueve o 10 regiones codificantes, denominadas zonas abiertas de lectura (ORFs por sus siglas en inglés). Dichas ORFs son secuencias de nucleótidos que codifican proteínas no estructurales (enzimas) involucradas en la regulación de las funciones virales, así como proteínas estructurales involucradas en la producción de las diferentes partículas del virus.

Aquellas que codifican proteínas no estructurales son conocidas como genes de expresión temprana o E ("*early*") y las que codifican proteínas estructurales se denominan genes de expresión tardía o L ("*late*"), de acuerdo a si son expresados antes o después de la síntesis del ADN destinado a ser ensamblado en las partículas de progenie viral. En el VPH, siete u ocho de las regiones ORFs codifican para genes tempranos y únicamente dos para genes tardíos. Contiene además una región no codificante, conocida como región larga de control o región reguladora principal, cuyas

secuencias se encargan de la regulación de la expresión de todos sus genes, tanto de las regiones temprana como tardía.

Zonas abiertas de lectura (ORFs) del VPH

	Funciones principales de cada uno de los genes
E1	Modulador de la replicación de ADN
E2	Regulación de la transcripción viral
E3	Desconocida
E4	Disrupción de la citoqueratina en células escamosas
E5	Ligada a la transformación celular y receptores de factores de crecimiento
E6	Proliferación y transformación celular, ligada a p53
E7	Proliferación y transformación celular, activación de la transcripción, ligada a gen Rb
L1	Mantenimiento de la proteína mayor de la cápside
L2	Mantenimiento de la proteína menor de la cápside

Clasificación clínico-patológica del VPH

En la actualidad, se han descrito más de 100 tipos de VPH cuyas manifestaciones clínicas incluyen un amplio espectro de lesiones proliferativas en la piel, la mucosa oral, laríngea y del tracto anogenital. Al menos veinte de los anteriores muestran tropismo por el tracto anogenital.

De acuerdo al tropismo tisular y las diferentes manifestaciones clínicas del VPH, se han constituido tres grupos clínico-patológicos: cutáneo, mucoso y el grupo de la epidermodisplasia verruciforme, De gran interés es el grupo con afinidad hacia las mucosas, cuyo riesgo de progresión a cáncer constituye dos grupos: un grupo de riesgo bajo o no oncogénico que incluye los tipos virales 6, 11, 42, 43 y 44 cuyas principales manifestaciones clínicas son los condilomas acuminados y lesión

intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG). En contraste, los virus de riesgo alto u oncogénicos, que incluyen los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67 y 68, se asocian a todo el espectro de lesiones intraepiteliales invasoras, tanto del epitelio escamoso como glandular. Los tipos 6 y 11, del grupo de bajo riesgo y los tipos oncogénicos 16 y 18, representan dos terceras partes de todos los tipos de VPH asociados a neoplasias anogenitales

Enfermedades causadas por VPH

Grupo clínico-patológico	Tipos virales	Lesión producida
Grupo cutáneo	1,4	Verrugas plantares
	2,26,38,29,38,49,57,60,63,65	Verrugas vulgares
	3,10,27	Verruga plana
	7	Condiloma de Butcher
Grupo de la epidermodisplasia verruciforme	5,8,9,12,14,15,17,19-25,36,37,46,50	Lesiones maculares
Grupo mucosotrópico	13, 32	Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck)
	6, 32	LIEBG condiloma acuminado, papilomas laríngeo y conjuntival
	42-44, 53-55, 62-66	Principalmente LIEBG
	16, 31, 33, 35, 52, 58, 67	LIEBG, LIEAG, carcinoma escamoso invasor
	18, 39, 45, 59, 68	LIEBG, LIEAG, carcinomas escamoso y glandular

Se ha identificado la expresión de más de veinte secuencias de ARN mensajero, la mayoría en una forma específica a tipo celular y diferenciación. Los productos de los genes E6 y E7 han sido los más estudiados a causa de su interacción con los genes supresores p53 y Rb y su papel en la transformación celular, se denominan oncogenes o genes transformantes, mientras que los genes denominados L1 y L2 codifican para las proteínas de la cápside. De la Fuente Villarreal et al. (2010)

El virus del papiloma humano es transmitido por las relaciones sexuales vaginales, anales u orales, puede encontrarse en ambos sexos tanto el masculino como el femenino, pero ciertos genotipos como son los genotipos de alto riesgo 16 y 18 afectan a las mujeres generando cáncer del cuello uterino siendo más frecuente en mayores de 40 años de esta edad, raramente afecta a menores de 30; según estudios el número más elevado de fallecimientos se reporta entre los 50 y 60, prácticamente la finalidad de dirigir esta prueba a mujeres entre los 30 y 59 años es el diagnóstico temprano.

El diagnóstico se realiza a través de una técnica de biología molecular llamada Care HPV por medio de la captura de híbridos 2 (CH2) para la cual se requiere una muestra de células del cuello uterino, la toma de la muestra es realizada por personal de enfermería y llevada al laboratorio donde será almacenada entre 2° y 8° C hasta ser transportada al establecimiento donde será procesada.

Toma de muestra

La toma de la muestra es similar a la del Papanicolaou: la mujer se recuesta en una camilla y un profesional de la salud, luego de la colocación del espéculo, se extrae una muestra de células del cuello del útero con un cepillo especialmente diseñado para este fin. Esa muestra se coloca en un tubo colector que contiene un medio de transporte líquido.

La toma de la muestra puede ser realizada por médicos, enfermeras o auxiliares de enfermería, previamente capacitados, mediante un cepillo que se introduce en el canal endocervical. Este cepillo se coloca posteriormente en el tubo que contiene el medio para su transporte al laboratorio. En el laboratorio, las células cervicales se someten a una solución alcalina desnaturalizante que expone el material genético. Puede realizarse en cualquier establecimiento de salud que cuente con los insumos para la obtención de la misma, desde un hospital en el tercer nivel de prestación, hasta un centro de atención primaria. De esta manera es posible descentralizar la toma y favorecer un mejor acceso al tamizaje de toda la población objetivo.

Una vez tomada la muestra, se debe asegurar la correcta identificación de la misma con nombre, apellido y número de identificación personal, así como el mecanismo de traslado, a fin de que las muestras lleguen en tiempo y forma a los laboratorios encargados de procesarlas. Este último paso es de vital importancia para la coordinación entre los centros de salud donde ha sido hecha la toma y el laboratorio. Por ejemplo, en el caso de la prueba de VPH Captura Híbrida 2, el material debe ser retirado del establecimiento dentro de los 14 días después de la toma de la muestra, de lo contrario la misma podría ser descartada. (Organización Panamericana de la Salud, 2016, pp 29-31)

Las muestras deben conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C si el ensayo va a realizarse en el plazo de una semana. Si el ensayo va a realizarse más de una semana después, conserve las muestras a -20 °C durante un máximo de 3 semanas. Se ha añadido un conservante al medio de transporte para retrasar el crecimiento bacteriano y mantener la integridad del ADN. No está concebido para preservar la viabilidad de los organismos o de las células.

Consideraciones para el método:

- La prueba de VPH está diseñada para detectar las cepas de alto riesgo.
- Un resultado negativo no excluye totalmente la ausencia de virus de VPH pues hay limitaciones producidas por errores de muestreo o por niveles muy bajos de infección.
- El cepillo no debe utilizarse en mujeres embarazadas.
- Con elevadas concentraciones de cremas antimicóticas, gel anticonceptivo, o productos para higiene vaginal en el momento de la toma, existe la posibilidad de un falso negativo en muestras cuyos niveles de virus estén cercano al valor de corte.
- Puede existir reacción cruzada con el plasmodio pBR322, que podría dar lugar a falsos positivos, ya que este presenta algunas secuencias análogas, especialmente si hay altas concentraciones de este plasmodio bacteriano. Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia.

El cáncer de cuello uterino es la principal causa de muerte por cáncer en El Salvador. A medida que surgen nuevas tecnologías y algoritmos de gestión para el cribado y la prevención, es importante que quienes trabajan en entornos de bajos recursos comprendan el impacto de estos nuevos enfoques. Cuando los recursos son limitados, también es importante comprender qué intervenciones serán la estrategia ganadora desde un punto de vista rentable. (Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, 2019)

Captura de Híbridos 2

La prueba de Captura de Híbridos 2 (CH2) es la prueba más antigua utilizada en tamizaje y ha sido validada clínicamente en múltiples estudios. Esta prueba permite la detección de VPH-AR por medio de la utilización de un cóctel de sondas para los 14 VPH-AR. Como su nombre lo indica, es una técnica en la cual se identifican híbridos de ADN (ácido desoxirribonucleico) con sondas de ARN (ácido ribonucleico). La técnica de Captura de Híbridos 2 (Hybrid Capture 2, HC2) fue

desarrollada originalmente por Digene Corporation (EE.UU.) y actualmente por QIAGEN (EE.UU.) y desde el año 2000 cuenta con la aprobación de la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) para uso rutinario en las actividades de detección temprana en combinación con la citología.

Para lograr su cometido, la nueva técnica se basa en el conocimiento molecular del genoma del virus y consiste en ‘pescar’, literalmente, el material genético del VPH con otros genes del virus, los cuales son creados de manera sintética en el laboratorio y tienen la capacidad de asociarse con otros correspondientes a ellos en la muestra de células que obtenemos de la paciente

El procedimiento es posible gracias a que el ADN está formado por cadenas de moléculas complementarias (como piezas de un rompecabezas) que se encuentran unidas por enlaces químicos que pueden separarse con relativa sencillez y volver a crearse en condiciones favorables, cuando encuentran a su par.

Así, lo que busca esta prueba es formar moléculas híbridas (de ahí su nombre), las cuales surgen de la unión entre fragmentos de la información genética del VPH y aquellas sintéticas complementarias que se generaron en el laboratorio.

Posteriormente, dichos híbridos se colocan sobre una placa y se ponen en contacto con anticuerpos capaces de reconocerlos al mismo tiempo, se les expone a reactivos capaces de emitir una señal luminosa que amplifica la interacción y permite descubrir la presencia viral.

Debemos señalar que, aunque el resultado de los estudios confirme la presencia de VPH, ello no significa que se presentará cáncer en el cuello del útero; esta información nos permite determinar si la paciente está en riesgo de padecerlo y, de esa manera, prevenirlo mediante vigilancia frecuente y tratamientos específicos. Asimismo, cuando el resultado es negativo existe riesgo mínimo o nulo de padecer tumores malignos.

La prueba de captura de híbridos se utiliza sólo en mujeres mayores de 30 años, pues, aunque es frecuente encontrar la infección por VPH en menores de 25 años, es altamente probable que eliminen las lesiones por sí solas, con o sin tratamiento médico, al cabo de un año

Es posible que, si se efectúa un examen de captura de híbridos en mujeres con 25 años o menos, detectemos que 80% de ellas no tienen alto riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino; por tanto, se prefiere dirigir esta prueba a mujeres con más de 30 años, que por lo general no tienen capacidad de eliminar las lesiones y pueden sufrir infección persistente con lesiones peligrosas. Prueba Para la Vida, Preventive Oncology International México A.C, (s.f.)

Care HPV Test

Características

- Detección de 14 tipos de VPH de alto riesgo
- Prácticos resultados de las pruebas en 2,5 horas para un posible seguimiento el mismo día
- Detección primaria precisa, robusta y accesible
- Alta sensibilidad y especificidad clínica

Detalles del producto

La prueba care HPV es una prueba de diagnóstico por lotes rápida de amplificación de señal para la detección del ADN del VPH de alto riesgo. La prueba care HPV permite la detección cualitativa de 14 tipos de ADN de VPH de alto riesgo en muestras cervicales y vaginales en entornos de recursos limitados.

Actuación

Se llevó a cabo un estudio clínico multicéntrico que utilizó la prueba care HPV con el sistema de prueba care HPV con muestras de cuello uterino recolectadas con el cepillo care y el medio de recolección de care HPV de mujeres (30–59 años) en una población general de detección y clínicas

ambulatorias. Se inscribió un total de 1279 mujeres en este estudio, lo que representa una distribución relativamente equitativa en 3 hospitales; 1241 participantes completaron el estudio. Los 3 centros de estudio recolectaron muestras de aproximadamente 147 pacientes diagnosticadas con cáncer de cuello uterino o lesiones precancerosas (NIC 2/3+), 162 pacientes con lesiones benignas (inflamación/neoplasia intraepitelial cervical leve, NIC 1) y 932 casos de control normal. También se realizó tinción con ácido acético para examen visual (VIA). La citología en base líquida se realizó en cada hospital y los resultados se registraron utilizando la Clasificación de Bethesda. La prueba care HPV, la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2 y la amplificación del ácido nucleico del VPH mediante un kit de detección fluorescente basado en PCR se realizaron para cada muestra de paciente. Todas las pruebas de cuidado del VPH se realizaron a temperatura ambiente (15–30 °C). Los resultados de las pruebas se compararon con el estado de la enfermedad de cada paciente. La concordancia entre la prueba care HPV Test y la prueba digene HC2 High-Risk HPV DNA fue del 93,71 %. La concordancia entre el Test VPH asistencial versus la detección VPH basada en PCR fue del 90,89%.

En estudios que compararon especímenes recolectados por el propio paciente con los recolectados por el médico, los resultados de la prueba de HPV en el cuidado indicaron una sensibilidad reducida pero similar para NIC 2+: 70–83 % para los recolectados por el paciente versus 82–96 % para el recolectado por el médico. Los resultados de especificidad fueron similares para NIC 2+ para ambos métodos: 87–91 % para las muestras recolectadas por el propio paciente versus 83–92 % para las muestras recolectadas por el médico.

Los estudios indican que la prueba Care HPV no presenta reacciones cruzadas con los microorganismos que probablemente se encuentren en las muestras cervicales o vaginales humanas. La prueba care HPV no presenta reacciones cruzadas con el ADN genómico humano.

No hay secuencias de ADN de reacción cruzada superpuestas en el VIH virus de la inmunodeficiencia humana, el VHB virus de la hepatitis B, el VEB virus de Epstein-Barr, el CMV Citomegalovirus, el adenovirus 2 y la meningitis de *Neisseria*.

Las sustancias que se pueden encontrar en muestras cervicales o vaginales (sangre total, ducha vaginal, crema antimicótica, gel anticonceptivo y lubricante vaginal) se analizaron para determinar el impacto en el rendimiento de la prueba de VPH de cuidado. Se observaron resultados falsos positivos con la crema antifúngica, pero no se observaron resultados falsos positivos con ninguna de las otras sustancias a ninguna de las concentraciones probadas.

Principio

La prueba care HPV utiliza la misma tecnología Hybrid Capture 2 (HC2) desarrollada para la prueba QIAGEN digene HC2 High-Risk HPV DNA (prueba HC2).

La prueba care HPV detecta la presencia de los tipos de VPH cancerígenos de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 utilizando sondas de genoma completo complementarias al ADN del VPH, anticuerpos específicos, amplificación de señal y detección quimio luminiscente. La prueba care HPV se utiliza con el sistema de prueba care HPV para analizar grupos de alto riesgo de ADN de VPH en muestras cervicales y vaginales recolectadas con un cepillo care y un medio de recolección care HPV.

Procedimiento

La prueba care HPV y el sistema de prueba care HPV detectan la presencia de 14 tipos de VPH cancerígenos de alto riesgo utilizando sondas de ARN de genoma completo complementarias al ADN del VPH, anticuerpos específicos y detección quimio luminiscente. El ADN diana se combina con sondas de ARN específicas, creando híbridos ARN: ADN. Luego, los híbridos de ARN: ADN se capturan en una fase sólida recubierta con anticuerpos de captura universales

específicos para los híbridos de ARN: ADN. La matriz del espécimen se lava de los híbridos capturados para eliminar los inhibidores.

Durante la amplificación de la señal, los híbridos de ARN: ADN capturados se detectan con múltiples anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina. La señal resultante de la reacción quimio luminiscente es leída por el cuidado Luminómetro de prueba de VPH. Los resultados son interpretados automáticamente por el sistema de prueba care HPV y se muestran gráficamente en la pantalla del controlador de prueba care HPV.

La señal producida por el sustrato hidrolizado se mide para dar un resultado en unidades relativas de luz (RLU) cuantificadas por un luminómetro. Un valor RLU igual o mayor que el valor de corte (CO) significa que la muestra contiene suficiente cantidad del ADN del VPH de alto riesgo para ser considerado clínicamente positivo. Un valor RLU por debajo del valor de corte significa que la muestra no contiene ADN del VPH de alto riesgo o que es insuficiente y es considerado clínicamente negativo.

La lectura final de la señal de quimio-luminiscencia permite reportar la prueba como positiva cuando hay emisión de luz o negativa cuando no la hay. Una prueba positiva significa que la mujer ha sido infectada por alguno de los 14 tipos de VPH-AR. Mas sin embargo esta prueba no permite identificar cuál de ellos es y tampoco si la paciente tiene uno o varios de estos tipos. La prueba de CH2 no está diseñada para dar un resultado cuantitativo sino más bien cualitativo.

Aplicaciones

El uso de la prueba de VPH de cuidado está indicado como una prueba de detección primaria en mujeres de 30 años o más para detectar la infección por VPH de alto riesgo. Los tipos de VPH detectados por la prueba son los tipos de VPH de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. La infección por VPH de alto riesgo, es un riesgo factor para desarrollar neoplasia

intraepitelial cervical de alto grado (NIC 2/3+). Los especímenes cervicales para análisis pueden ser recolectados por médicos o profesionales médicos capacitados. Las muestras vaginales se pueden recolectar bajo la supervisión de un profesional médico. La prueba Care HPV es una herramienta de detección primaria rentable para el cáncer de cuello uterino en los países en desarrollo.

El panel de capacitación care HPV se utiliza para demostrar el funcionamiento y el mantenimiento del sistema de prueba care HPV, realizar una descripción general detallada del procedimiento de la prueba care HPV, demostrar cada paso de la prueba care HPV y realizar la validación del rendimiento de la prueba del aprendiz. QIAGEN. (s.f.)

Ventajas

Entre las ventajas de esta prueba, se encuentran la alta sensibilidad y el alto valor predictivo negativo. Debido a esto, una paciente con una citología negativa y una determinación de VPH negativa tiene una probabilidad prácticamente nula de tener alguna lesión al menos durante los 5 años siguientes. Se han considerado desventajas, como su especificidad limitada (porque la mayoría de las infecciones no se asocian con lesiones) y que puede presentar reacciones cruzadas con sondas de bajo riesgo.

La rentabilidad de implementar la prueba de VPH para el tamizaje de cáncer de cuello uterino en El Salvador

El cáncer de cuello uterino es la principal causa de muerte por cáncer entre las mujeres en El Salvador. La detección de lesiones precancerosas causadas por una infección persistente con el virus del papiloma humano (VPH) oncogénico puede prevenir el cáncer de cuello uterino. Sin embargo, la detección convencional con prueba de Papanicolaou ha enfrentado desafíos en El Salvador y otros entornos de bajos recursos debido a la baja cobertura de población, la necesidad

de pruebas de detección frecuentes y la navegación insuficiente hacia el tratamiento para las mujeres con prueba positiva.

La OMS recomienda la detección con pruebas de ADN del VPH cuando haya recursos disponibles. Después de una prueba de VPH positiva, la OMS ha respaldado estrategias de manejo que incluyen tratamiento inmediato con crioterapia, remisión a colposcopia o pruebas de triaje con inspección visual con ácido acético (IVAA), en las que solo se derivan mujeres que son tanto positivas para el VPH como para la IVAA, para tratamiento. Se necesitan más datos sobre la rentabilidad de estas estrategias de gestión.

En 2012, se lanzó el proyecto Prevención del Cáncer Cervicouterino en El Salvador (CAPE) para evaluar la factibilidad y la rentabilidad de incorporar la prueba del VPH de bajo costo en el programa nacional de detección del cáncer cervicouterino. El proyecto CAPE es un proyecto demostrativo en tres fases, realizado por el Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL) con el apoyo técnico de la organización sin fines de lucro Basic Health International.

En la fase 1, un estudio piloto de 2000 mujeres de 30 a 49 años de edad examinadas en cuatro centros de salud en la región Paracentral, las mujeres que resultaron positivas para el VPH recibieron uno de dos algoritmos de manejo: manejo de colposcopia (remisión a colposcopia seguida de tratamiento para mujeres con neoplasia intraepitelial cervical), o detección y tratamiento (tratamiento inmediato para todas las mujeres elegibles).

La Fase 2 amplió las pruebas de VPH a 8000 mujeres en ocho centros de salud para comparar los dos algoritmos de manejo en una población de detección más grande y diversa.

En la fase 1, más mujeres recibieron el seguimiento recomendado en la cohorte de detección y tratamiento que en la cohorte de manejo de colposcopia, y se encontró que la detección y el tratamiento eran muy rentables para el manejo de mujeres con VPH positivo en El Salvador. El

objetivo del presente análisis fue utilizar los datos de la fase 2 de CAPE para evaluar la rentabilidad del manejo de la colposcopia y los algoritmos de manejo de detección y tratamiento (en relación con la detección basada en Papanicolaou) a medida que continúa la implementación y la ampliación en el sector público. Maza et al. (2019)

Beneficios de la prueba

- Detección rápida y precisa del VPH, virus que puede provocar cáncer de cérvix
- Detecta el ADN de VPH de alto riesgo, responsable de las oncoproteínas que se expresan en las células cervicales con mayor probabilidad de ser malignas
- Categoriza los virus de mayor riesgo
- Ayuda a centrarse en mujeres de mayor riesgo de cáncer de cuello uterino, combinando la citología y la prueba que detecta el ADN de los tipos del VPH de alto riesgo. (Centro medico Escalon, 2019)

CONCLUSIONES

El virus del papiloma humano es muy común en nuestro país las mujeres cada vez comienzan a más temprana edad su vida sexual exponiéndose a ponerse en contacto en cualquier momento de su vida por lo tanto es necesario conocer que no necesariamente desarrolla cáncer, sino que además produce otros tipos de patologías.

Considero que la toma de la muestra no es una técnica invasiva debe ser incómoda para las pacientes, pero la finalidad que tiene permite la aceptación de las mujeres es un proceso rápido en una posición que favorece la toma es realizado por personal capacitado, las muestras son resguardadas y transportadas y recibidas en el laboratorio de acuerdo a procedimientos normados por el ministerio manteniendo y garantizando los resultados confiables, certeros y verídicos.

Esta técnica la captura de híbridos me parece una forma de biología molecular menos compleja que la PCR y un poco más accesible al poder implementarse en un área de un laboratorio de primer nivel de atención sabiendo el beneficio que tiene para los usuarios de este establecimiento haciéndoles difícil la posibilidad de visitar centros privados donde se realicen este tipo de pruebas.

Para los resultados este puede ser positivo o negativo, un resultado negativo no me dice que este fuera de riesgo debe realizarse cada 5 años por otro lado un resultado positivo tampoco me dice que tengo cáncer ni me dice tipo de genotipo de VPH de alto riesgo tengo ni si tengo solo uno o varios de estos, lo que si es cierto es que es una prueba de cribado primario, robusta y accesible, con una sensibilidad mínima 70 % y máx. 96 % y una especificidad mínima 83% y máxima del 92% lo que lo hace una prueba según mis consideraciones confiable.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. De la Fuente Villarreal, D., Guzmán López, S., Barboza Quintana, O., y González Ramírez, R. A. (octubre 2010). Biología del Virus del Papiloma Humano y técnicas de diagnóstico. *Revista medicina universitaria*, 12(49), 231-238. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-universitaria-304-articulo-biologia-del-virus-del-papiloma-X1665579610901659>
2. Mateos Lindemann. M. L., Pérez Castro, S., Rodríguez-Iglesias, M., y Pérez-Gracia M. T. (noviembre 2017). Diagnóstico microbiológico de la infección por virus del papiloma humano. *Revista enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 35(9), 593-602. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-diagnostico-microbiologico-infeccion-por-virus-S0213005X16301173>
3. Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia. (26 de abril de 2019). Pruebas de VPH en El Salvador. <https://www.figo.org/es/news/pruebas-de-vph-en-el-salvador>
4. Organización Panamericana de la Salud. (2016). Procedimientos para la toma de la muestra y su envío al laboratorio. *Incorporación de la prueba del virus del papiloma humano en programas de prevención de cáncer cervicouterino*. (pp. 29-31). https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&alias=36609-incorporacion-prueba-virus-papiloma-humano-programas-prevencion-cancer-cervicouterino-manual-gerentes-programas-salud-609&category_slug=guias-manuales-3444&Itemid=270&lang=en
5. Prueba Para la Vida, Preventive Oncology International México A.C. (s.f.). Captura de híbridos para detección de vph. <https://pruebaparalavida.org/captura-de-hibrido-para-deteccion-de-vph/>

6. QIAGEN. (s.f.). careHPV Test Kit <https://www.qiagen.com/es-de/products/diagnostics-and-clinical-research/sexual-reproductive-health/cervical-cancer-screening/carehpv-test-kit>
7. Sarria Bardales, G., Manrique Hinojosa, J., Múñez terán, M. C., Mora Alférez, A., Roa Meggo, Y., Y Juárez Coello, P. (2022). detección del virus papiloma humano por captura de híbridos 2 en mujeres de Lima, Perú. *Revista Venezolana de Oncología*, 34(2), 67-74. <https://www.redalyc.org/journal/3756/375670062004/html/>
8. Centro medico Escalon. (26 de marzo de 2019). *Detección Precisa del Virus del Papiloma Humano*. <https://www.centromedicoescalon.com/deteccion-precisa-del-virus-del-papiloma-humano/>
9. Maza, M., Alfaro, K., Gage, G. C., Castle, F. E., Rachel Masch, F., Cremer, M., Y Kim J. J. (abril 2019). La rentabilidad de implementar la prueba de VPH para el tamizaje de cáncer de cuello uterino en El Salvador. *International journal of GYNECOLOGY Y OBSTETRICS*, 145(1), 40-46. <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijgo.12773>